

成果報告書

脳PRO 文部科学省 脳科学研究戦略推進プログラム

課題

2010-2014

E

はじめに

文部科学省「脳科学研究戦略推進プログラム(脳プロ)」は、社会への応用を明確に見据えた脳科学研究を推進し、その成果を社会に還元することを目的に平成20年度よりスタートしました。脳プロでは、特に重点的に推進すべき政策課題を選定し、その課題解決に向けた研究組織を構成し、戦略的に研究を推進しております。

このうち、課題E「心身の健康を維持する脳の分子基盤と環境因子」は、平成22年度より研究を実施していましたが、平成26年度で5年間の事業が終了しました。ここに本事業の成果を御報告させていただきます。

本プログラムの成果を更に発展させ、今後も社会に貢献する脳科学の実現を目指し、一層努力してまいりたいと思います。

平成27年3月

脳科学研究戦略推進プログラム
課題Eプログラムディレクター

津本 忠治

目次

課題Eを進めるにあたって	1
脳科学研究戦略推進プログラム(脳プロ)	2
課題Eの概要	4
興奮性亢進の生涯にわたる脳への影響の解明	7
田中 光一	
脳の発生・発達過程の可視化と環境因子による影響の解明	8
仲嶋 一範	
声認知異常を検出する脳波・聴覚検査法開発とASDの客観的診断	9
稲垣 真澄	
環境からみた脳神経発生・発達の健康逸脱機序の解明	10
遠山 千春	
発達環境が育む脳とところの形成	11
下郡 智美	
うつ病とストレス反応における遺伝と生活習慣に関する研究	12
功刀 浩	
睡眠・リズム計測技術を用いた健康睡眠習慣の確立	13
三島 和夫	
ネスファチン-オキシトシン軸と求心性迷走神経による摂食・脳機能制御	14
矢田 俊彦	
アルツハイマー病脳に超早期から生じるリン酸化シグナル分子ネットワークの解明	15
岡澤 均	
脳老化に関与する分子基盤の解明と脳老化の新規計測法の開発	16
水澤 英洋	
糖尿病とアルツハイマー病を結ぶ分子メカニズムの解明	17
岩坪 威	
神経細胞が環境変化に対応するメカニズムの解明	18
一條 秀憲	

課題Eを進めるに当たって

現代人は心身に多くの問題を抱え、疲労・ストレス・睡眠不足等が事故や疾患の誘因となり、膨大な経済的損失をもたらしています。また、急速な高齢化社会の進行に伴い、QOL(生活の質)を損ない、介護を要する精神・神経疾患が大きな社会問題となりつつあります。そのような状況の中、我が国の経済的・社会的活力を維持するためには、小児期・成人期・老年期にわたり、脳が健全に機能することはとりわけ必要不可欠です。

こうした社会的背景の下、現代人が健やかな人生を過ごす上で、脳科学研究が果たすべき役割は、過去に比して著しく高まっています。そこで、脳科学研究を戦略的に推進し成果を社会に還元することを目指して、平成20年度より文部科学省の事業として、プログラムディレクターとプログラムオフィサーの統括の下で「脳科学研究戦略推進プログラム(脳プロ)」が開始されました。平成22年度より、健やかな人生を支える脳科学を目指して、「発生から老化まで」という人間の一生について「育ち」「暮らし」「老い」の3段階に着目し、心身の健康を支える脳の機能や健康の範囲を逸脱するメカニズム等を「分子基盤と環境因子の相互作用」という視点で解明することを目指し、課題E「心身の健康を維持する脳の分子基盤と環境因子」を実施することとなりました。

5年間の課題実施期間を通して、本課題では、「健やかな育ち」班、「活力ある暮らし」班、「元気な老い」班の三つの研究班内外の研究者が連携することによって、ヒトや動物を対象とする研究を通じて、一生にわたって脳の健康を脅かす外的要因である食・環境ストレス(胎内環境・養育環境・摂食・睡眠・社会的ストレス等)と内的要因である脳の健康を維持する遺伝的分子基盤の相互作用を体系的に解明し、生涯を通じての脳の健康維持機構への戦略を探りました。一部の成果は新しいバイオマーカー(生物学的分子指標)や診断技術開発へと展開されてきています。

倫理への取組

プログラム開始当初より、倫理的・法的・社会的課題を重要な問題と捉え、倫理グループ部会を立ち上げ、課題内及び課題間での情報提供を行い、様々な問題について検討してきました。また、平成22年6月から倫理相談窓口を開設し、研究中に生じる倫理的な問題に迅速な対応が取れる体制を整備しました。その後、これらの実績から平成24年度には倫理支援体制の事業として、新たな課題「生命倫理課題」を開始しました。

これらの取組によって、倫理的配慮の下、最新の脳科学研究を推進しています。

動物実験について

動物の福祉に十分に配慮した研究を進めるために、本プログラムの開始と同時に、動物実験小委員会を設置しました。最新研究に対応しながら、適切な動物実験の遂行に努力しています。

課題E プログラムディレクター
津本 忠治

課題E プログラムオフィサー
柚崎 通介

課題E プログラムオフィサー
加藤 忠史



脳科学の二つの意義

科学的意義

脳科学研究の成果は多くの自然科学に波及効果をもたらし、また人文・社会科学と融合した新しい人間の科学を創出するなど、これまでの科学の枠組みを変える可能性を秘めています。

社会的意義

現代社会は高齢化、生活様式の多様化・複雑化が進み、心身ともに様々な問題を抱える人が著しく増えてきています。

一方、脳科学研究は近年目覚ましい発展を遂げており、医療・福祉の向上に最も貢献できる研究分野の一つです。将来的には教育等における活用も期待されています。

脳プロ発足の経緯

このような二つの意義を背景に、**脳科学委員会**における議論を踏まえ、文部科学省は平成20年度より「脳科学研究戦略推進プログラム(脳プロ)」を開始しました。

脳プロは、「社会に貢献する脳科学」の実現を目指して、特に重点的に推進すべき政策課題を選定し、その課題解決に

向けて、社会への応用を見据えた脳科学研究を戦略的に推進するプログラムです。

脳プロでは、それぞれの課題を担当するプログラムディレクター、プログラムオフィサーの指導・助言の下、研究を進めています。

脳科学委員会

平成19年10月、文部科学大臣が科学技術・学術審議会に対し、「長期的展望に立つ脳科学研究の基本的構想及び推進方策について」を諮問しました。

これを受け、同審議会の下に「脳科学委員会」が設置され、我が国における脳科学研究を戦略的に推進するため、その体制整備の在り方、人文・社会科学との融合、さらには大学等におけ

る研究体制等を議論し、平成21年6月に第1次答申「長期的展望に立つ脳科学研究の基本的構想及び推進方策について」を取りまとめました。

この答申では、**重点的に推進すべき研究領域等**が設定され、社会への明確な応用を見据えた対応が急務とされる課題について、戦略的に研究を推進することが提言されています。

重点的に推進すべき研究領域等

脳と社会・教育

(豊かな社会の実現に貢献する脳科学)
発達障害の予防と治療等への脳科学研究の確実な展開、脳科学と人文社会科学との融合により社会へ貢献

脳と心身の健康

(健やかな人生を支える脳科学)
睡眠障害の予防、ストレスの適切な処理、生活習慣病等及び精神・神経疾患の発症予防・早期診断などに資する研究

脳と情報・産業

(安全・安心・快適に役立つ脳科学)
脳型情報処理システムや脳型コンピュータの実現、脳内情報機序の解明を通じた技術開発により社会へ貢献

基盤技術開発

他の研究分野にも革新をもたらす基盤技術開発により、我が国における科学技術全体の共通財産を構築

現在進められている実施課題



課題E

心身の健康を維持する脳の分子基盤と環境因子



課題F

精神・神経疾患の克服を目指す脳科学研究



BMI技術

BMI技術を用いた自立支援、精神・神経疾患等の克服に向けた研究開発



霊長類モデル

霊長類モデル動物の創出・普及体制の整備



課題G

脳科学研究を支える集約的・体系的な情報基盤の構築

実施課題について

BMI技術

BMI技術を用いた自立支援、精神・神経疾患等の克服に向けた研究開発

BMI技術を用いて、身体機能の回復、代替・補完や精神・神経疾患の革新的な診断・治療・予防につながる研究開発を実施

BMI:ブレイン・マシン・インターフェース。
Brain(脳)とMachine(機械)を相互につなぐ技術です。

霊長類モデル

霊長類モデル動物の創出・普及体制の整備

脳科学研究や創薬を推進する基盤強化のため、利用者のニーズの高い精神・神経疾患に対するモデルマウスの遺伝子改変等による創出及び低コストでの供給を可能とする普及体制の整備

神経情報基盤

脳科学研究を支える集約的・体系的な情報基盤の構築

複雑かつ多層な脳機能を解明するため、様々なモデル動物から発生する多層、多層情報を集約化・体系化した情報基盤の構築を目指した研究を実施

生命倫理

生命倫理

生命倫理等に関する課題の解決に関する研究

実施機関:東京大学

精神・神経疾患の発症のメカニズムを解明する研究を含む本事業全体の研究を促進するに当たり、倫理的・法的・社会的課題に対する注意深い検討が不可欠であり、新たな問題等を解決するための研究を平成23年度より実施

健康脳

精神・神経疾患の克服を目指す脳科学研究

精神・神経疾患(発達障害、うつ病等、認知症)の発症のメカニズムを明らかにし、早期診断、治療、予防法の開発につなげるための研究開発を実施

生涯健康脳

心身の健康を維持する脳の分子基盤と環境因子

心身の健康を支える脳の機能や健康の範囲を逸脱するメカニズム等を「分子基盤と環境因子の相互作用」という視点で解明するための研究開発を実施

脳プロの歩み

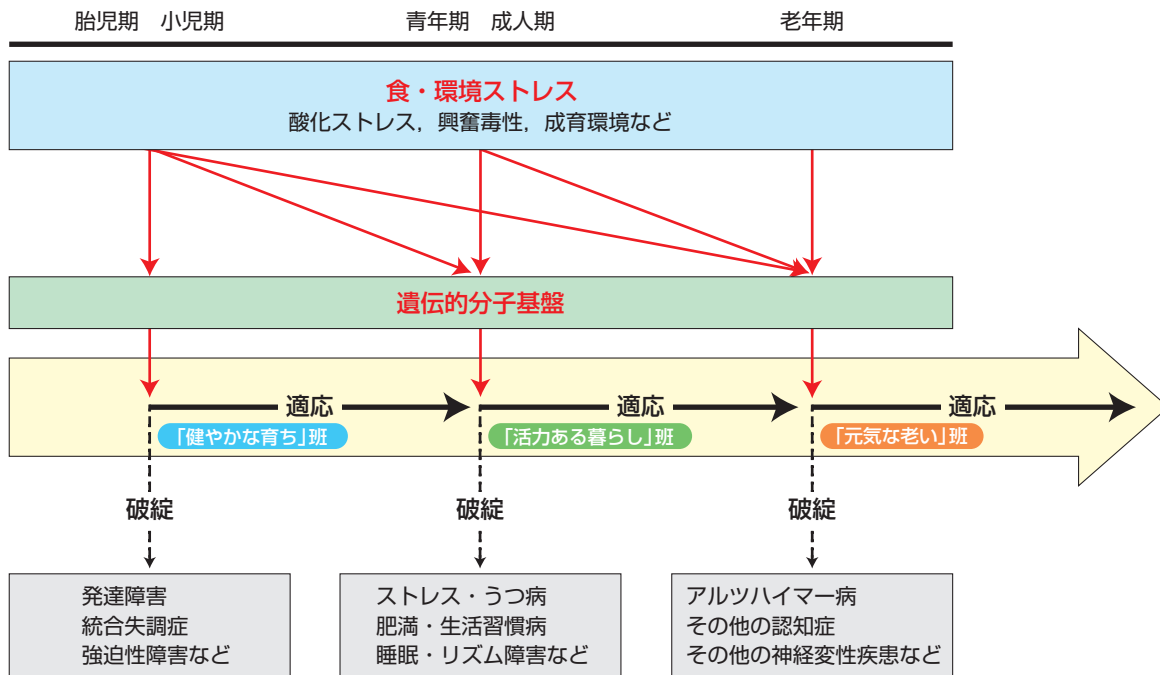


◎:拠点長

社会に貢献する脳科学の実現を目指す



総括班

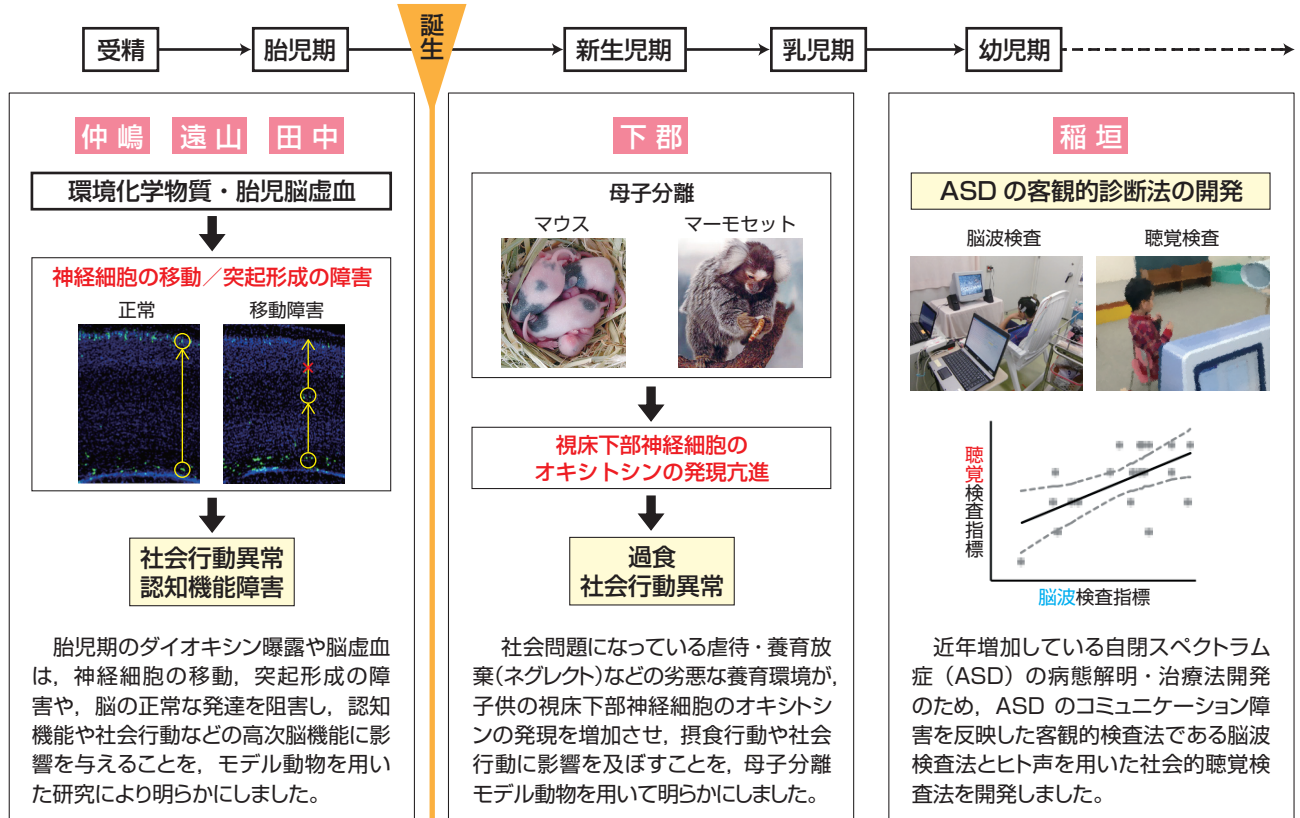


食・環境ストレスの制御による、生涯にわたる健康脳の維持を目指す

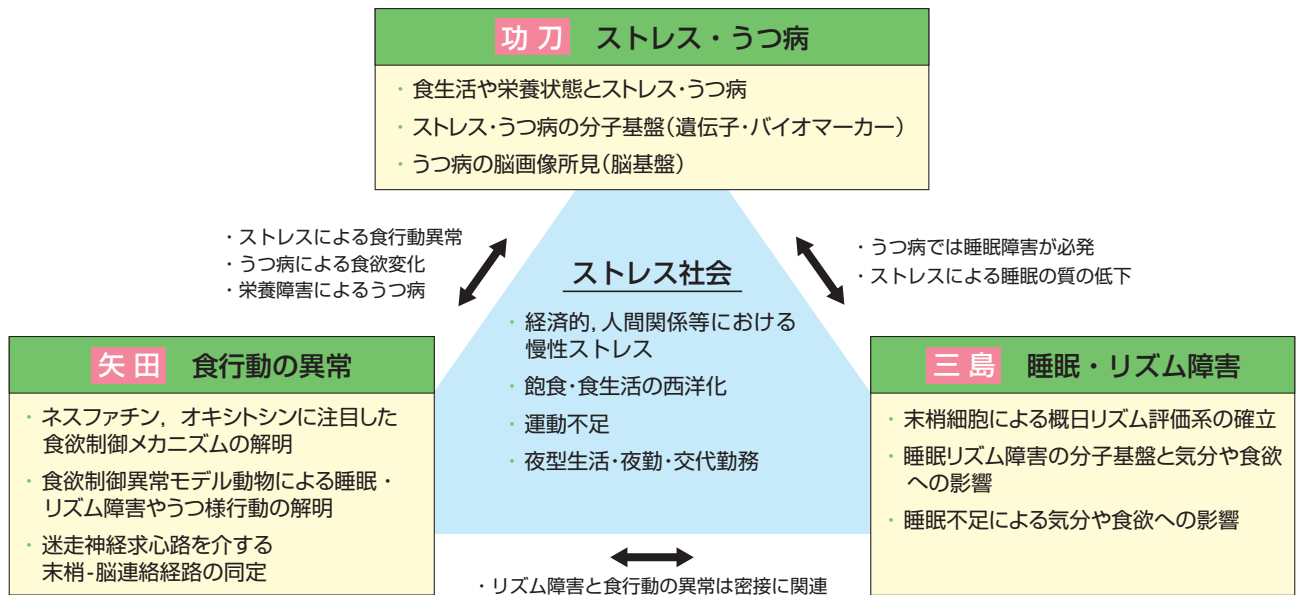
課題Eでは、人の生涯を小児（発達）期，成人期，老年期と三つに大別して、各々に対応する研究グループ「健やかな育ち」班、「活力ある暮らし」班、「元気な老い」班を組織するとともに、

全体の連携と協力を推進するために「総括班」を構成し、研究を進めてまいりました。

「健やかな育ち」班



「活力ある暮らし」班

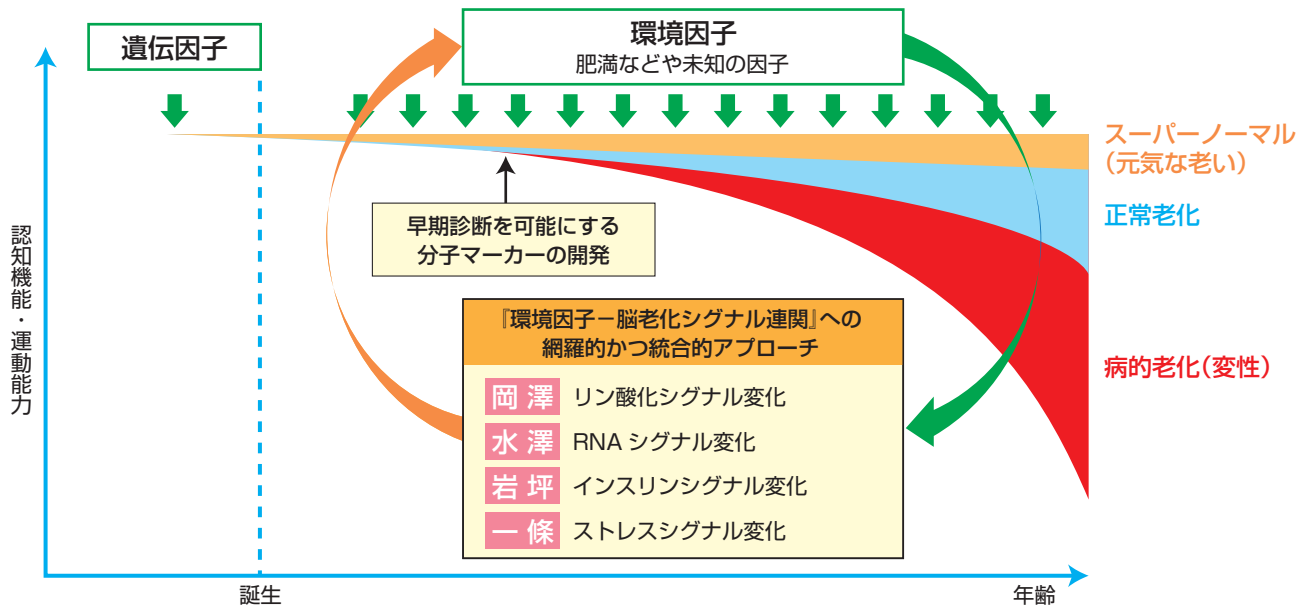


ストレス性疾患であるうつ病と関連する食生活、遺伝子、バイオマーカー(生物学的指標)を見だし、MRIによってうつ病の脳基盤の解明と画像診断法の開発を行いました(功刀)。また、睡眠リズムの生物学的評価法の開発、リズム障害のリスク遺伝子、睡眠不足による気分や食欲への影響について解明しました(三島)。さらに、今まで知られていなかった食欲制御の神経・分子基盤の解明や肥満

治療薬の開発を目指しました(矢田)。

本研究により、現代において乱れがちな生活習慣の分子メカニズムと脳の障害(うつ病、睡眠障害、食行動の異常)との関連が明らかとなり、成果を応用することで、脳を健康に保ち、活力ある暮らしが可能になることが期待されます。

「元気な老い」班



高齢者に多い認知症は大きな社会問題になっています。統計によれば65歳以上の6%程度がアルツハイマー病などの認知症に罹患するとも言われています。一方で、80歳以上の高齢者でも認知症にならず、高い脳機能を保つ人々もいます。このような違い(個人差)がどのような原因で起きているかは十分に解明されていません。しかし、様々な研究の成果から、認知症に至る原因には遺伝因子

と生活習慣などの環境因子があることが近年分かって来ました。「元気な老い」班では、様々なアプローチを通じて、遺伝因子と環境因子の相互作用が正常な脳老化と異常な脳老化を分岐する仕組みを解明し、早期診断を可能にする分子マーカーや評価法を開発することを目指して研究を行ってきました。

●「健やかな育ち」班

東京医科歯科大学 難治疾患研究所 分子神経科学分野 教授	田中 光一 (班長)	扁桃体の遺伝子データベースの作成と脳の形成異常及び興奮性増大に起因する機能障害の解明
慶應義塾大学 医学部 解剖学教室 教授	仲嶋 一範	発生過程の可視化による海馬と大脳新皮質の形成機構の解明
国立精神・神経医療研究センター 精神保健研究所 知的障害研究部 部長	稲垣 真澄	発達障害児社会性認知に関する臨床研究
東京大学大学院 医学系研究科 疾患生命工学センター 健康環境医工学部門 教授	遠山 千春	環境からみた脳神経発生・発達の健康逸脱機序の解明
理化学研究所 脳科学総合研究センター 視床発生研究チーム チームリーダー	下郡 智美	間脳形成における遺伝子環境相互作用

●「活力ある暮らし」班

国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 疾病研究第三部 部長	功刀 浩 (班長)	体[睡眠・リズム]とところの恒常性維持及び破綻機構の遺伝子環境相互作用に関する研究
国立精神・神経医療研究センター 精神保健研究所 精神生理研究部 部長	三島 和夫	睡眠調整に関わる生物時計及び恒常性維持機構の機能評価スキルの開発とその臨床展開 ----- 生物時計、睡眠覚醒、気分調節を結ぶ双方向的な機能ネットワークの分子基盤に関する研究
自治医科大学 医学部 生理学講座 統合生理学部門 教授	矢田 俊彦	生体恒常性維持における視床下部ネスファチン回路網と迷走神経を介した末梢環境情報

●「元気な老い」班

東京医科歯科大学 難治疾患研究所 神経病理学分野 教授	岡澤 均 (班長)	脳の正常老化と異常老化を分岐する環境由来の脳リン酸化シグナルの解明
東京医科歯科大学大学院 医歯学総合研究科 脳神経病態学分野 特任教授	水澤 英洋 (拠点長)	脳老化と神経変性における環境・遺伝要因の解析
東京大学大学院 医学系研究科 神経病理学分野 教授	岩坪 威	代謝恒常性の破綻と環境ストレスによる脳老化・変性促進の分子基盤解明
東京大学大学院 薬学系研究科 細胞情報学教室 教授	一條 秀憲	環境ストレスが脳分子ストレスと神経変性を招来する分子機構の解明

目的

- 脳の興奮性亢進と様々な精神・神経疾患の共通病態との関連性の解明
- 脳の興奮性亢進を抑制する精神・神経疾患治療薬の開発

成果

- 脳の興奮性を亢進させた遺伝子改変マウスが、うつ病や統合失調症等の精神疾患モデル動物になることを明らかにした。
- グルタミン酸の取り込みを亢進し、脳の興奮性亢進を抑制する化合物を同定した。

近年、精神・神経疾患の発症に関与する遺伝要因・環境要因が明らかになりつつあります。これらの知見を、精神・神経疾患の予防・治療につなげるためには、発症メカニズムを分子レベルで解明する必要があります。そのため、遺伝子改変技術を応用したモデル動物の作成及び解析が重要な役割を果たします。

脳は多くの神経細胞のネットワークからできており、神経細胞同士の情報は神経伝達物質により伝えられます。神経伝達物質には、他の神経細胞を興奮させる物質と抑制させる物質の2種類があり、脳の正常な働きには両者のバランスが重要です。脳の興奮性亢進は脳に様々な影響を及ぼし、生涯にわたる種々の精神・神経疾患の病態に関与することが示唆されていましたが、これまで適切なモデル動物がなく、その詳細は不明でした。

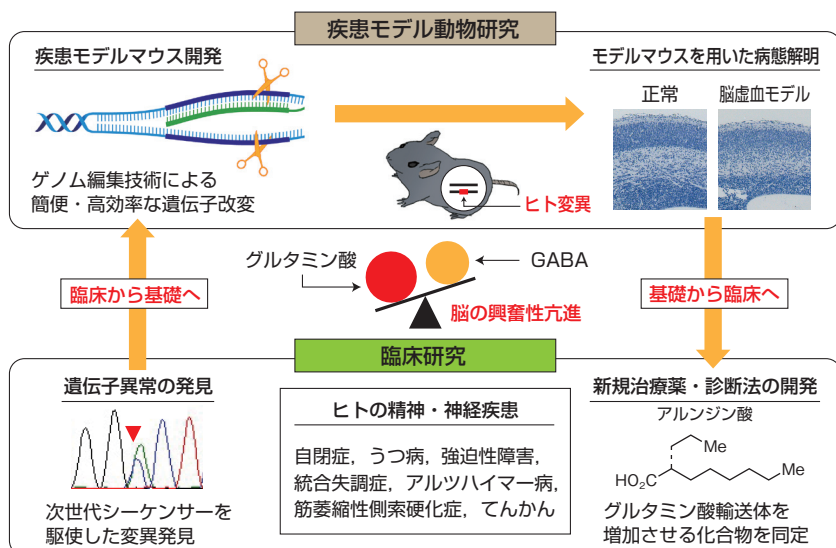
そこで私たちはマウスを用い、グルタミン酸輸送体(神経細胞を興奮させる物質であるグルタミン酸を細胞外から細胞内に取り込むタンパク質)の欠損により細胞外のグルタミン酸濃度を上げ、グルタミン酸受容体を過剰に活性化させることにより、脳の興奮性亢進を再現しました。グルタミン酸輸送体の欠損の程度・部位・時期の異なる8種の遺伝子改変マウスを作成し、それらが様々な精神・神経疾患の症状を再現することを明らかにしました。主な発見を以下にまとめます。

- ・ 生まれながらにして大脳皮質特異的にグルタミン酸輸送体を欠損させると、生後13日に限局するてんかん発作を

起こし、大脳皮質2/3層の神経細胞のパッチ状脱落を起こすことを明らかにしました。この病変は、自閉症患者さんの死後脳で報告されている病理所見と似ており、自閉症の発症に脳の興奮性亢進が関与することを示唆しています。

- ・ 幼弱期での全脳におけるグルタミン酸輸送体の欠損が、統合失調症様行動を引き起こすことを明らかにしました。
- ・ 思春期以降に、全脳においてグルタミン酸輸送体を欠損させると、強迫性障害・自閉症に共通する主要な症状である繰り返し行動を示しました。この繰り返し行動はアルツハイマー病治療薬であるメマンチンにより改善しました。
- ・ 成人期以降に、グルタミン酸輸送体を手綱核(脳の中心部にある構造)から欠損させると、うつ様行動を示しました。このマウスは、グルタミン酸神経伝達及びグリア細胞の異常による初めてのうつ病モデル動物です。
- ・ 生まれながらにして脊髄特異的にグルタミン酸輸送体を欠損させると、筋萎縮性側索硬化症様症状(下肢麻痺と脊髄運動ニューロンの選択的変性)を示しました。また、抗てんかん薬のペランパネルが本症状を改善することを明らかにしました。

さらに、グルタミン酸輸送体の発現を増加させる化合物を検索し、アルンジン酸を同定しました。アルンジン酸が、脳の興奮性亢進を抑制し、神経細胞保護効果があることを明らかにしました。



研究成果のご紹介

- ・ W. Cui et al. "Glial dysfunction in the mouse habenula causes depressive-like behaviors and sleep disturbance." *The Journal of Neuroscience*, 34: 16273-16285, 2014.
- ・ T. Aida et al. "Translating human genetics into mouse: The impact of ultra-rapid *in vivo* genome editing." *Development, Growth & Differentiation*, 56: 34-45, 2014.
- ・ N. Bai et al. "Dock3 interaction with a glutamate-receptor NR2D subunit protects neurons from excitotoxicity." *Molecular Brain*, 6: 22, 2013.
- ・ F. Maekawa et al. "A genetically female brain is required for a regular reproductive cycle in chicken brain chimeras." *Nature Communications*, 4: 1372, 2013.
- ・ T. Aida et al. "Overstimulation of NMDA receptors impairs early brain development *in vivo*." *PLoS ONE*, 7: e36853, 2012.

目的

- 海馬と大脳新皮質の発生過程の可視化による両者の共通点と相違点の解明
- 大脳皮質の発生・発達過程及び機能への外的要因の影響とそれを予防する手法の開発

成果

- 海馬特有の新規細胞移動様式を発見・命名した。
- 薬物による傷害から脳機能を守る上で重要な神経細胞及び分子を同定した。また、胎児脳虚血が脳発生・発達に与える影響を解明しその予防法を見いだした。

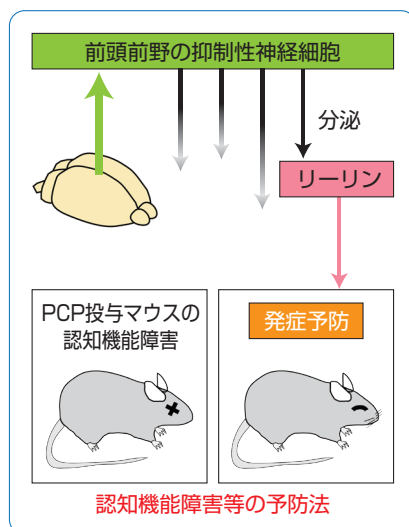
脳の健康を維持する機構、及びそれからの逸脱機構を解明する基盤として、私たちは脳の発生過程の細胞を生きたま可視化し、その振る舞いを解明することをまず目標としました。特に、精神・神経疾患等で重要な脳部位である海馬の発生過程は、大脳新皮質と比べて不明点が多いため、両者を比較してその異同を明らかにすることを目指しました。その結果、両者ともに神経細胞は脳の深部で産生され、その後多くの細い突起を出し入れする特徴的な運動（多極性移動）をする点では共通でした。ところが、その後大脳新皮質神経細胞はそれぞれ一本の放射状線維を使って「登り棒を登るように脳表面に向かって移動」していくのに対し、海馬の神経細胞は複数の放射状線維をつかみ「ジグザグとロッククライマーのように移動」していくことを見いだしました。この新しい移動様式を「クライミング様式」と命名して発表しました。

脳の健康を維持する機構及び逸脱機構についても、興味深い発見がありました(図左)。フェンサイクリジン(PCP)と呼ばれる薬物は、動物に投与すると認知機能障害を含む統合失調症に似た症状を誘発することから、モデル動物の作成に頻用されています。私たちは、抑制性神経細胞(周囲の別の神経細胞の活動を抑えて興奮にくくさせる神経細胞)の前駆細胞をマウスの前頭前野にあらかじめ移植しておく、PCPを投与しても発症しなくなることを見いだしました。同じ前駆細胞を後頭葉に移植しても発症予防効果はありませんでした。抑制性神経細胞には様々な種類があり

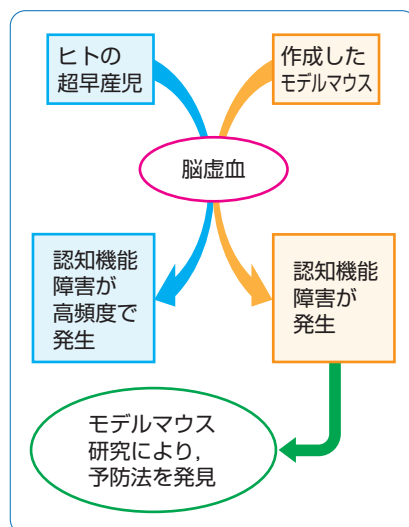
ますが、興味深いことに、前頭前野に移植された前駆細胞は、発症予防効果が見られた際、リーリンを分泌する特殊な種類の抑制性神経細胞に多く分化していました。リーリンは統合失調症等との関連が知られている分子のため、次にリーリン分子そのものを脳に注入してその効果を調べたところ、PCPに対して発症予防効果を持つことを見いだしました。今後、脳内のリーリン分子の機能を強める、あるいは、前頭前野に特有の抑制性神経細胞分化パターンを制御する因子を見いだすことで、脳の健康維持やその逸脱回避に貢献できる可能性が期待されます。

さらに、正常な脳の発生・発達を脅かす代表的な胎内環境因子として、胎生期の脳虚血に注目しました(図右)。ヒトの超早産児は脳虚血を伴うことが多く、発達後に2~5割の高い確率で認知機能障害等の高次脳機能障害を呈することが知られています。そこで、マウスを用いて胎児脳虚血のモデルを作成し、ヒト超早産児の死後脳と比較したところ、神経細胞移動の障害などの共通の異常が生じていることを見いだしました。さらに、マウスでもヒトと同様に発達後に高い確率で認知機能障害が起こることを確認しました。そこで、脳虚血後にその発症を予防できる手法をマウスを使って検索したところ、細胞移動障害等と認知機能障害の両者を予防できる有望な方法を見いだすことができました。この発見は精神・神経疾患の治療法や予防法などの開発につながることを期待されます。

薬物から脳を守る細胞と分子を発見



胎児脳虚血が脳発生・発達に与える影響を解明



研究成果のご紹介

- ・ K. Ishii et al. "Reelin has a preventive effect on phencyclidine-induced cognitive and sensory-motor gating deficits." Neuroscience Research, in press.
- ・ A. Kitazawa et al. "Hippocampal pyramidal neurons switch from a multipolar migration mode to a novel 'climbing' migration mode during development." The Journal of Neuroscience, 34; 1115-1126, 2014.
- ・ K. Sekine et al. "Reelin controls neuronal positioning by promoting cell-matrix adhesion via inside-out activation of integrin $\alpha 5 \beta 1$." Neuron, 76; 353-369, 2012.
- ・ D.H. Tanaka et al. "GABAergic precursor transplantation into the prefrontal cortex prevents phencyclidine-induced cognitive deficits." The Journal of Neuroscience, 31; 14116-14125, 2011.
- ・ K. Tomita et al. "Disrupted-in-Schizophrenia-1 (Disc1) is necessary for migration of the pyramidal neurons during mouse hippocampal development." Human Molecular Genetics, 20; 2834-2845, 2011.

声認知異常を検出する脳波・聴覚 検査法開発とASDの客観的診断

国立精神・神経医療研究センター
精神保健研究所 知的障害研究部 部長
稲垣 真澄
INAGAKI, Masumi

目的

- 自閉スペクトラム症など、発達障害児の社会性聴覚認知障害を抽出する、簡便な神経生理学的指標の開発
- 健診により社会性認知異常が疑われる子供に対する2次スクリーニング指標の開発

成果

- 言語機能に重要なヒト声認知に着目し、特異的に反応する脳波電位変化の抽出に成功した。
- ヒト声への鋭敏さを反映する「聴こえの検査」法を開発し、ASDスクリーニング検査として提案した。

自閉スペクトラム症 (autism spectrum disorder: ASD) は発達障害の一つとして、最近とても注目されています。2012年12月に発表された小・中学校調査(文部科学省)の結果によると、担任の先生は通常クラスにASDなど行動面に著しい困難を示す児童・生徒が3.6%いると見積もっています。ASD児は社会性認知の困難性、例えば目が合いにくいこと、他者の表情からの感情理解や言外の意味理解が難しいことが知られ、症状の軽い人から重い人まで様々なタイプが知られています。また、聴覚や体性感覚、視覚に過敏性あるいは鈍感性をしばしば示すことから、ASD児には外界からの情報の知覚やそれらの統合における機能的な問題が共通して存在することが想定されます。

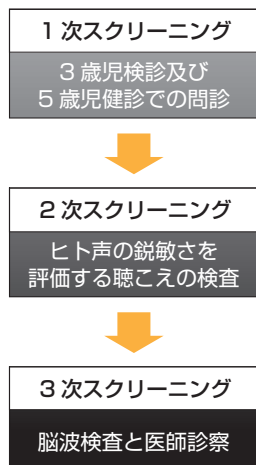
そこで私たちは、聴覚を介した社会性認知に関する神経基盤の解明、及びそれらを評価する指標の開発を目指した研究を進めました。これまでに左・右大脳半球の聴覚野付近と右半球の前部上側頭溝(aSTS)において、ヒトの「声」に対する活動が増大することが知られていました。私たちは最初に、光トポグラフィー(近赤外線スペクトロスコピー:NIRS)を用いて、声認知に関わる脳部位が聴覚野とaSTSにあることを確認しました。次いで、子供に適用できる簡便な方法として脳波検査法を開発しました。その際、脳波の信号の検出に適している刺激音(声・非声)の作成を行いました。ヒト声と対比するために用いた音は、風・雨など自然界の音、時計・ベルなど家庭の音、ピアノ・笛など楽器音から構成される環境音です。

最終的には検査時間を6分程度に短縮し、各刺激音に対する脳波を精確に解析したところ、健康な子供は脳波においてヒト声と非声を区別できていることが分かりました。一方、ASD児はヒト声と非声の区別が難しい様子がうかがえて、周波数分布にも違いが見られました。そしてこの方法を用いると、ASDなどの発達障害の判別が70%可能であることが見いだされたことから、神経生理学的な指標として有用と考えられました。

次に私たちは、小学校入学前の低年齢の子供においても適用可能なスクリーニング法を開発するため、脳波検査で裏付けられたヒト声への鋭敏さを評価する「聴こえの検査」法を新たに作成しました。関東、中部、九州在住の3歳以上の健康な幼稚園児、小学生そして成人、合計2,000名以上の協力を得て、声に対する反応の年齢変化を確認し、年齢に応じた基準値を策定することができました。この聴こえの検査の指標は、脳波検査の指標や社会性行動の指標と相関があることも確認されました。

このように私たちの研究により、脳機能評価に基づくASD児の階層的な診断プロセスが構築できる可能性が示されました。今後は、全国で展開されている就学前健診(3歳児健診や5歳児健診)によって社会性認知の困難性が疑われる子供に対する2次スクリーニングとして聴こえの検査を活用することや、3次スクリーニングとして脳波検査による詳細な評価を加えることがASDの客観的診断に寄与すると考えられます。

自閉スペクトラム症など発達障害の階層的診断システムの開発



早期発見と早期支援に向けて

研究成果のご紹介

- ・ M. Hirai et al. "Differential electrophysiological responses to biological motion in children and adults with and without autism spectrum disorders." *Research in Autism Spectrum Disorders*, 8: 1623-1634, 2014.
- ・ A. Yasumura et al. "Relationship between neural activity and executive function: An NIRS study." *ISRN Neuroscience*, 734952; 2014.
- ・ Y. Kita et al. "Altered brain activity for phonological manipulation in dyslexic Japanese children." *Brain*, 136: 3696-3708, 2013.
- ・ A. Gunji et al. "Facial identity recognition in children with autism spectrum disorders revealed by P300 analysis: A preliminary study." *Brain and Development*, 35: 293-298, 2013.
- ・ A. Yasumura et al. "Neurobehavioral and hemodynamic evaluation of cognitive shifting in children with autism spectrum disorder." *Journal of Behavioral and Brain Science*, 2: 463-470, 2012.

目的

- 高次脳機能を解析評価するための行動評価技術の開発
- 環境化学物質の曝露や社会的成育環境と脳の健やかな育ちとの関係を解明

成果

- 行動柔軟性課題、蛍光LMD法や社会行動解析システムの開発に成功した。
- ダイオキシン曝露や社会的環境からの隔離による認知機能や社会性脳機能異常の背景には、脳内遺伝子発現変化などのアンバランスがあることを見いだした。

子供たちの“こころの問題”を引き起こす要因には、遺伝的要因だけでなく、環境要因も重要であることが分かってきました。私たちはこれまで、環境化学物質の曝露による健康影響について解析を行い、大人では影響の見られない低レベルの化学物質曝露であっても、子供の脳の発達が障害されることを明らかにしてきました。本研究では、脳の健やかな育ちについて、「母体への有害化学物質の曝露や成育環境といった環境要因が、脳の発達にどのような影響をもたらすのか」というユニークなアプローチにより、子供の“こころの問題”の解決に向けた新しい発見を目指しました。加えて、健やかな脳の育ちにとって大事なことを科学の言葉で説明すること、最新脳科学の叡智を基にして、人生を支える健康を守るため、環境化学物質の安全基準設定のための科学的根拠を得ることも重要な目標です。

私たちは、マウスやラットに化学物質の曝露や成育条件の操作を行い、その後の変化を調べました。そのためにまず、行動柔軟性課題を開発し、それにより、記憶を整理整頓し、知識として利用する仕組みが前頭皮質にあることもつきとめました。またその際、脳の中で何が起きているのかを調べるため、顕微鏡で脳組織の特定の細胞を同定し、それをレーザーで切り抜き、高感度の遺伝子発現解析を行う技術も開発しました(蛍光LMD法)。病理組織と遺伝子発現をつなぐ新しい解析法として、医学全般での応用が期

待できます。

研究の結果、環境化学物質であるダイオキシンの認知機能の「育ち」を阻害し得ることが分かりました。さらに私たちは社会行動解析システムを開発し、ダイオキシンが認知機能だけでなく、社会性脳機能にも異常を生じさせることを、行動レベル、脳活動レベルで明らかにしました。そして興味深いことに、幼若期の一定の間、社会的環境から隔離したマウスでも同様の異常があることも分かりました。これらの環境操作を受けたマウスにおける脳活動レベルの異常は、自閉スペクトラム症や双極性障害を持つ患者に見られる脳活動異常と類似しています。これらの結果は、ヒトに特有とされるような高度の認知機能や社会性機能が、従来から推測されていた以上にマウスでも再現できることを示しています。

マウスやラットを用いた実験研究において、これまで調べることが難しかった認知機能や集団内での行動を対象として、その育ちに影響する環境要因を明らかにすることができました。これらモデル動物の解析により、精神機能の健やかな育ちに関する科学的理解が進み、また社会性障害の治療薬や介入法の開発が加速することが期待されます。さらに私たちは、社会行動解析システムを用い、逸脱から回復させる環境要因についての解明に取り組んでいきます。

胎生期・授乳期・幼若期

成熟後

環境要因

- ・ダイオキシン等の環境化学物質
- ・社会的隔離等の成育環境ストレス

影響による変化

- ・行動(認知機能・社会性)
- ・脳活動
- ・遺伝子発現

社会性への影響

水を飲む時間帯を制限し行動を観察



通常のマウス
水飲み場に殺到し、
奪い合い。

ダイオキシン曝露または
社会的隔離経験マウス
競争心が低く、水飲み場の
占有率が低下。

解析技術の開発

- ・行動柔軟性課題
- ・蛍光LMD法
- ・社会行動解析システム

研究成果のご紹介

- ・ S. Benner et al. "Early deprivation induces competitive subordination in C57BL/6 male mice." *Physiology and Behavior*, 137; 42-52, 2014.
- ・ M. Takeyama et al. "Disruption of paired-associate learning in rat offspring perinatally exposed to dioxins." *Archives of Toxicology*, 88; 789-798, 2014.
- ・ T. Endo et al. "Executive function deficits and social-behavioral abnormality in mice exposed to a low dose of dioxin *in utero* and via lactation." *PLoS ONE*, 7; e50741, 2012.
- ・ W. Yoshioka et al. "Fluorescence laser microdissection reveals a distinct pattern of gene activation in the mouse hippocampal region." *Scientific Reports*, 2; 783, 2012.
- ・ D. Tse et al. "Schema-dependent gene activation and memory encoding in neocortex." *Science*, 333; 891-895, 2011.

目的

- 発達環境の違いが脳の発達と行動に与える影響の解明
- 環境がコントロールする脳発達に関わる分子メカニズムの解明

成果

- 発達時の環境ストレスによって子マウスの過食行動が引き起こされることを明らかにした。
- 外部からの刺激に依存して神経細胞が形態を変えるメカニズムを解明した。

子供の脳発達は環境からの影響を受け、その後の脳機能に大きく影響を与えることが知られています。例えば、多様な言語環境が言葉の発達を促すバイリンガルなどは脳にとってプラスの発達です。こうした望ましい影響の一方で、発達環境が悪い場合には健全な脳の発育に影響を及ぼすマイナスの発達も知られています。大人になって脆弱な脳に成長していることは、ストレス社会と言われる現代において脳機能障害を起こすリスクが高まるという憂慮すべき問題です。しかし、発達期における影響が成長してから現れる場合、問題の原因を突き止めることが難しく、治療も困難になります。そこで、発達期と成体期を通して脳の中で何が起きているのかを知ることは、生涯を通して健康な脳を保持するために重要な基礎研究です。

私たちの研究室では、時間軸に沿って脳がどのように変化していくのか、特に発達中の脳が環境に合わせた神経回路をどのように形成するのか、その分子機構を明らかにしようとしてきました。また、最適な神経回路を形成できなかった時に生じる成体期の脳内における機能障害も明らかにしようとして試みました。

初めに、外部環境が与える脳発達への影響の有無を明らかにするため、離乳前の子マウスを母子分離という母親がいないストレス環境下に毎日繰り返し置き、離乳後の行動変化を調べました。母子分離を繰り返し経験した子マウスは離乳後、過食行動を起こし体重の増加が認められました。

これは母子分離を経験していない兄妹では見られなかったことから、発達環境によって起こされた行動異常であることが明らかになりました。

次に、実際に外部からの刺激が脳発達にどのような影響を与え、どのような因子が関わっているのかを明らかにすることにしました。生後すぐの子マウスは体を清潔に保つために、常時母親マウスに触れられたりなめられたりされ、その結果、大脳皮質に存在する触感情報が入力される体性感覚野における神経回路の整頓が起こります。そこで私たちはマウスにおける体性感覚野神経回路の整頓を行う遺伝子の単離を行い、その作用機序を明らかにしました。そして、この因子の機能はマウスだけでなくイタチ科のフェレットや、さらに霊長類であるコモンマーモセットでも保たれていることから、種を越えて保存されているメカニズムであることが示唆されました。

今後さらに、この因子が関わる神経回路の整頓機序を明らかにし、私たちヒトの脳内でも起こる、環境が促す脳神経回路の発達メカニズムの解明につながると期待されます。

子供の脳の発達

神経回路の整頓



脳内ネットワークの成熟



心身の発達



発達の時間軸

研究成果のご紹介

- ・ A. Matsui et al. "BTBD3 controls dendrite orientation toward active axons in mammalian neocortex." *Science*, 342: 1114-1118, 2013.
- ・ H. Mashiko et al. "Comparative anatomy of marmoset and mouse cortex from genomic expression." *The Journal of Neuroscience*, 32: 5039-5053, 2012.

うつ病とストレス反応における 遺伝と生活習慣に関する研究

国立精神・神経医療研究センター
神経研究所 疾病研究第三部 部長

功刀 浩
KUNUGI, Hiroshi

目的

- うつ病やストレス反応に関与する遺伝子や生活習慣（特に食生活・栄養）の解明、及び予防法や治療法の開発
- うつ病の診断や重症度評価に役立つバイオマーカー（生物学的指標）の開発

成果

- うつ病と関連する食生活や栄養学的問題、バイオマーカー（分子マーカー、脳画像）を見いだした。
- MRI技術を駆使してうつ病の脳基盤を解明し、画像診断法の開発を行った。

現代社会は飽食、食の文明化、運動不足、夜型社会など、脳の健康を損なわせる要因が少なくありません。私たちは、脳の健康が損なわれた状態としてのうつ病に着目し、生活習慣の問題（特に食生活と栄養）やストレス反応の異常とうつ病との関連について検討しました。また、最新の脳画像手法を用い、うつ病の脳構造変化について明らかにするとともに診断法の開発を行いました。

〈食生活と栄養〉 精神疾患の栄養学的調査は、これまで日本ではほとんど行われていません。そこで、およそ600人の精神疾患患者と健常者を対象に、食生活質問票と血液検査による栄養学的調査を行いました。その結果、肥満や脂質異常、葉酸欠乏、血中トリプトファン低下、緑茶の摂取が少ないことなどがうつ病と関連することが分かりました。さらに、動物実験により、緑茶特有の成分である「テアニン」というアミノ酸には脳の感覚情報処理や意欲を改善する作用があることが示唆されました。食生活の改善やサプリメントによってうつ病リスクを減少させることができると考えられます。

〈ストレス応答〉 ストレスホルモンとストレス症状・対処法との関連を調べました。その結果、ストレスホルモンを持続的に出して「頑張りがすぎて」しまう人は、睡眠の質が悪いことや、脳内の神経ネットワークが低下していることを見いだしました。一方、ストレスホルモンの分泌が極端に低下している人では、ストレスから逃避してしまい（頑張れない）、不安や対人関

係過敏などのストレス関連症状が強いことを見いだしました。また、ストレスホルモンを制御する遺伝子（FKBP5）の型によってストレス応答が異なること、高齢になってからの認知機能に差が生じることを見いだしました。

〈分子基盤〉 血液や脳脊髄液からDNAやタンパク質を採取し、うつ病との関連について調べました。その結果、リスク遺伝子（P75NTR、ABCB1）や抗うつ薬への反応性を規定する遺伝子（CUX1）などの分子マーカーを見いだしました。脳脊髄液を調べると、うつ病や統合失調症において炎症性サイトカイン（インターロイキン6）が高い傾向があり、神経炎症が存在することが示唆されました。また、うつ病の方の一部においてエタノールアミンという分子が低下していることを発見しました。

〈脳基盤〉 MRI画像技術を駆使し、各領域ごとの脳容積、脳領域間をつなぐ神経ネットワーク、脳血流などについて解析しました。その結果、海馬などのいくつかの領域の脳容積を比較することによって、うつ病と統合失調症とをおよそ80%の的中率で判別する方法を開発しました。また、放射性物質を用いない局所脳血流量の測定法（ASL法）を精神疾患に応用し、うつ病や統合失調症の局所脳血流異常を明らかにしました。

以上の研究成果は、うつ病のリスクを下げるための生活習慣改善法の開発、客観的診断やサブタイプ分類に役立つバイオマーカーの実用化、新しい治療薬の開発に役立ちます。

新しいうつ病治療と予防への展開

〈食生活と栄養〉

肥満や脂質異常・葉酸欠乏・血中トリプトファン低下・緑茶摂取量少
⇒栄養指導、サプリメントの開発、食品からの医薬品開発



〈ストレス応答〉

ストレス応答の個人差による類型化
・ストレスホルモン過剰型
・ストレスホルモン低下型
・遺伝子（FKBP5）の型による個人差
⇒それぞれのタイプに合った治療法の開発

〈分子基盤〉

・リスク遺伝子や抗うつ薬反応性を規定する遺伝子の同定
・脳脊髄液中の分子マーカーの同定
⇒分子メカニズムに基づいた新しい診断・治療法の開発、個人の体質に合った「オーダーメイド医療」の実現

〈脳基盤〉

・うつ病と統合失調症の判別法開発
・放射性物質を使用しない脳血流測定法の開発
⇒MRIによる客観的診断法の実用化



研究成果のご紹介

- ・ S. Ogawa et al. "Reduced cerebrospinal fluid ethanalamine concentration in major depressive disorder." Scientific Reports, 5; 7796, 2015.
- ・ S. Ogawa et al. "Plasma L-tryptophan concentration in major depressive disorder: New data and meta-analysis." The Journal of Clinical Psychiatry, 75; e906-915, 2014.
- ・ T. Fujii et al. "Effect of the common functional FKBP5 variant (rs1360780) on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and peripheral blood gene expression." Psychoneuroendocrinology, 42; 89-97, 2014.
- ・ M. Ota et al. "Discrimination between schizophrenia and major depressive disorder by magnetic resonance imaging of the female brain." Journal of Psychiatric Research, 47; 1383-1388, 2013.
- ・ C. Wakabayashi et al. "Behavioral and molecular evidence for psychotropic effects in L-theanine." Psychopharmacology, 219; 1099-1109, 2012.

目的

- 個人に適した健やかな睡眠習慣(就床時刻, 睡眠時間)を知るための評価手法の開発
- 誤った睡眠習慣や睡眠障害が心身に及ぼす悪影響とその発現メカニズムの解明

成果

- 個人の体内時計周期, 体内時刻, 必要睡眠量を簡便に推定する測定系を開発した。
- 睡眠不足, 睡眠リズム障害, 不眠症が抑うつや肥満を引き起こすメカニズムを明らかにした。

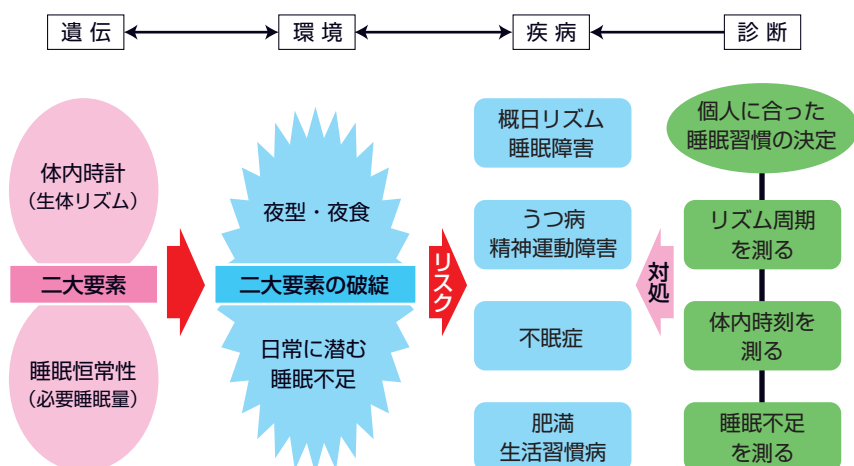
「十分な睡眠と休養をとり, 活力ある生活を送る」現代社会ではこのような当たり前のことさえ容易ではありません。睡眠不足や不眠症による眠気や交通事故, 夜勤による心身の不調など, 休養不足がもたらす弊害は枚挙にいとまがありません。また, 睡眠時間やクロノタイプ(朝型夜型)には大きな個人差があるため, 一般的な社会スケジュールにうまく適応できない人々も少なくありません。私たちは睡眠習慣を決定する二大要素である体内時計(生体リズム)と睡眠恒常性(必要睡眠量)を簡便に測定する手法の開発に取り組みました。私たちを悩ます睡眠問題は, この二大要素に関わる遺伝的脆弱性や, 体内時計を狂わす光環境や食習慣など, 遺伝と環境の両面からの影響を受けます。適切な睡眠時間や就床時刻を知ることができれば, 健康で活力のある生活を送るための睡眠習慣を決める一助になると考えました。5年間の取組の結果, 以下のような成果を上げることができました。

- ①**体内時計周期を測定するシステムを作りました:**小さな皮膚細胞内の時計遺伝子の転写サイクルを測定して, 概日リズム周期を試験管内で知ることができるようになりました。睡眠リズムの異常(概日リズム睡眠障害や強い夜型傾向)を持つ人の体内時計周期の異常や関連する遺伝子多型も明らかになりました。
- ②**体内時刻を簡便に測定するシステムを作りました:**血漿中振動物質の包括的メタボローム分析により, 1日2回の採血だけで体内時刻を知ることができるようになりました。

クロノタイプを知るための新たな日本人向け質問紙も作成しました。

- ③**自覚できない睡眠不足が心身へ及ぼす影響を明らかにしました:**自覚がなくても, 日々約1時間の睡眠不足が蓄積され, 精神機能や内分泌機能に悪影響を及ぼしていることが明らかになりました(潜在的睡眠不足)。9日間の休養で潜在的睡眠不足を解消したところ, 食欲ホルモン, インスリン, ストレスホルモンが正常化しました。
- ④**睡眠不足によって抑うつが生じるメカニズムを明らかにしました:**睡眠不足時には, ネガティブな情動刺激に対する抑うつ・不安反応を抑えるシステムとしての情動調節に関わる扁桃体の活動のセーブがうまく働かないことを明らかにしました。
- ⑤**慢性不眠症がうつ病の罹患リスクを高めるメカニズムを明らかにしました:**慢性不眠症では, 覚醒に関わる脳領域が賦活され過覚醒状態にあること, 過覚醒の度合いが強いほど抑うつが強まることも明らかになりました。
- ⑥**肥満・生活習慣病リスクを高める睡眠・食習慣を明らかにしました:**睡眠・食習慣を分単位で精密にモニターすることで, 夜型生活, 短時間睡眠, 入眠6~3時間前の脂質摂取が肥満(BMI $\geq$ 25)と関連することが分かりました。これらの成果は健やかな睡眠習慣を保つための秘訣とその意義を知る上で大きなヒントを与えてくれます。今後は, 得られた成果を元に, 個人にマッチした睡眠習慣を決定するためのアルゴリズムを作成予定です。

体内時計と恒常性機能を知り, 適切な睡眠習慣を確立



研究成果のご紹介

- A. Hida et al. "Screening of clock gene polymorphisms demonstrates association of a *PER3* polymorphism with morningness-eveningness preference and circadian rhythm sleep disorder." *Scientific Reports*, 4: 6309, 2014.
- A. Hida et al. "In vitro circadian period is associated with circadian/sleep preference." *Scientific Reports*, 3: 2074, 2013.
- Y. Motomura et al. "Sleep debt elicits negative emotional reaction through diminished amygdala-anterior cingulate functional connectivity." *PLoS ONE*, 8: e56578, 2013.
- S. Kitamura et al. "Intrinsic circadian period of sighted patients with circadian rhythm sleep disorder, free-running type." *Biological Psychiatry*, 73: 63-69, 2013.
- T. Kasukawa et al. "Human blood metabolite timetable indicates internal body time." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109: 15036-15041, 2012.

目的

- 室傍核ネスファチン・オキシトシン神経が担う脳・全身機能解明とその回路の同定
- 求心性迷走神経による末梢環境受容が関わる脳機能調節機構の解明と疾患改善への応用

成果

- ネスファチン神経が食・光・ストレスを統合し、オキシトシン神経を介して摂食・概日リズムを制御することを解明した。
- オキシトシンや食事誘導分子の求心性迷走神経を介した脳情報伝達と過食・肥満改善を発見した。

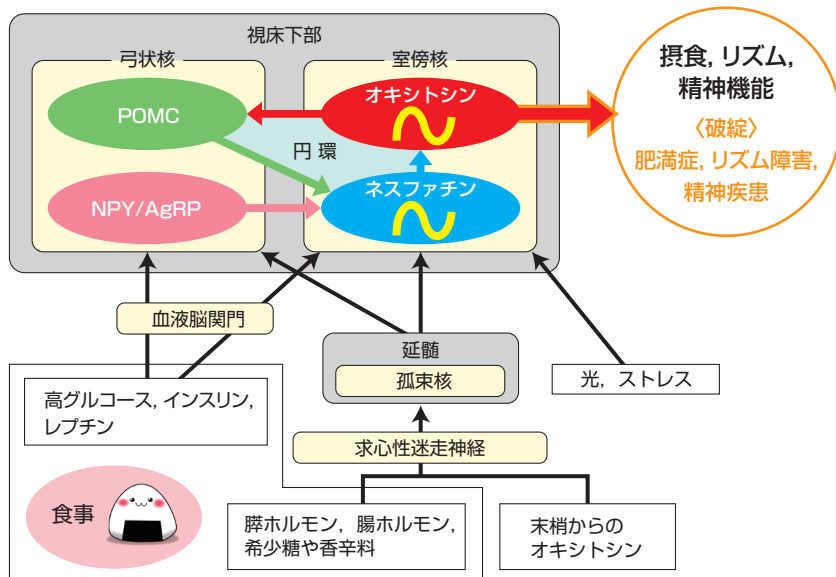
〈ネスファチンと摂食リズム〉 視床下部室傍核に存在するネスファチン神経は、食事とその誘導分子(高グルコース・インスリン・レプチン)、目から入力される光、及び心身ストレスにより、その活動が変化します。また、その情報は、室傍核のオキシトシン神経に伝えられていることが明らかになりました。光の影響を受けるネスファチン及びオキシトシンの遺伝子発現は明期に上昇する概日リズム変動を示し、その結果、摂食行動の概日リズム(夜行性であるげっ歯類の場合、明期に低下)を誘導しています。さらに、ネスファチン発現リズムの消失は、明期の過食と肥満を起こします。また、明期における脳内ネスファチン補充により、過食と肥満が改善することを明らかにしました。ネスファチン発現のリズム制御が摂食リズム障害の治療標的となることが示されました。

〈オキシトシンの効果とその作用機序〉 マウスにオキシトシンを腹腔内や皮下などの末梢から投与すると、求心性迷走神経を介し、延髄の孤束核、引き続いて室傍核が活性化され、メタボリック症候群である肥満や高血糖、脂肪肝が抑制されることが明らかとなりました。また、腹腔内投与及び経鼻投与(自閉スペクトラム症に対する治療効果を検証する臨床試験で用いられている投与方法)は、同程度摂食を抑制すること、経鼻投与では自発行動の抑制が観察されなかったことの2点から、経鼻投与が直接的に摂食行動を抑制していることが明らかとなり、自閉スペクトラム症の社会性行動にも直接作用する可能性を示しています。この結果は、

オキシトシン経鼻投与が有効かつ安全な肥満、自閉スペクトラム症の治療ルートである可能性を示唆しています。さらに、オキシトシン経鼻投与による統合失調症患者さんの肥満・臨床症状改善効果を検討する臨床研究を「活力ある暮らし」班の功刀浩部長グループと共同で進めています。

〈摂食・リズム・精神機能の連関：求心性迷走神経及び室傍核の重要性〉 腸ホルモンや腸ホルモンなどの食事誘導分子と同様に、希少糖や香辛料が求心性迷走神経を介し、食欲を制御していることが明らかとなり、今後、食品成分による食欲調節への応用が期待されます。

一方、摂食行動の一次中枢とされる視床下部弓状核のNPY/AgRP及びPOMC神経の情報は、室傍核ネスファチン神経を通じて、室傍核オキシトシン神経に伝えられること、さらに、室傍核オキシトシン神経が弓状核POMC神経を直接活性化させる回路が存在することを明らかにしました。この室傍核-弓状核の〈ネスファチン→オキシトシン→POMC→〉の3神経の円環回路が、摂食・リズム・精神機能の連関に重要であり、本機構を解明することで、それらの複合的病態が明らかにされることが期待されます。



研究成果のご紹介

- Y. Iwasaki et al. "Peripheral oxytocin activates vagal afferent neurons to suppress feeding in normal and leptin-resistant mice: A route for ameliorating hyperphagia and obesity." *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 308:R360-R369, 2015.
- Y. Maejima et al. "Nasal oxytocin administration reduces food intake without affecting locomotor activity and glycemia with c-Fos induction in limited brain areas." *Neuroendocrinology*, 101:35-44, 2015.
- Y. Maejima et al. "Oxytocinergic circuit from paraventricular and supraoptic nuclei to arcuate POMC neurons in hypothalamus." *FEBS Letters*, 588: 4404-4412, 2014.
- U. Sedbazar et al. "Paraventricular NUCB2/nesfatin-1 rises in synchrony with feeding suppression during early light phase in rats." *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 434: 434-438, 2013.
- Y. Maejima et al. "Peripheral oxytocin treatment ameliorates obesity by reducing food intake and visceral fat mass." *Aging*, 3: 1169-1177, 2011.

目的

- 正常な脳老化と異常な脳老化を分岐するリン酸化シグナルの探索
- アルツハイマー病の早期病態の解明

成果

- アルツハイマー病の脳で生じるリン酸化シグナル変化の中核となる病態コアネットワークを発見した。
- アルツハイマー病の超早期に生じるリン酸化シグナル変化を捉えた。

高齢者に多い認知症は大きな社会問題になっています。統計によれば65歳以上の6%程度がアルツハイマー病などの認知症に罹患するとも言われています。アルツハイマー病は最も一般的な種類の認知症です。アルツハイマー病の研究の最重要課題は、発症前あるいはアルツハイマー病に特徴的な病理学的変化(アミロイドβタンパク質(Aβ)脳内沈着)前の超早期病態を明らかにすること、さらには、超早期病態に介入することで治療が可能であることを示すことにあります。

Aβは細胞外で凝集沈着する前の溶けた状態でも毒性を持つことが知られています。私たちはそのような早期段階でリン酸化酵素が活性化しているかを検討し、さらに神経細胞の中で起きているタンパク質リン酸化シグナルを介した情報伝達が、加齢とともに認知症状態ではどのように正常状態から逸脱していくかを解明することを目指しました。まず、アルツハイマー病遺伝子異常を持ったモデルマウス4種類と正常マウスの脳サンプル、及び、ヒトのアルツハイマー病と健常者の死後脳サンプルを対象に、最先端質量分析を用いて可能な限り多数のリン酸化タンパク質(1,000 ~ 1,600個のタンパク質、60,000 ~ 100,000か所のリン酸化部位)について、その変化を網羅的に調べました。次に、スーパーコンピュータを用いたシステムズバイオロジーを駆使して、それぞれのリン酸化タンパク質の変化をタンパク質間結合関係の基盤情報にマッピングし、変化を示す分子同士が形成する

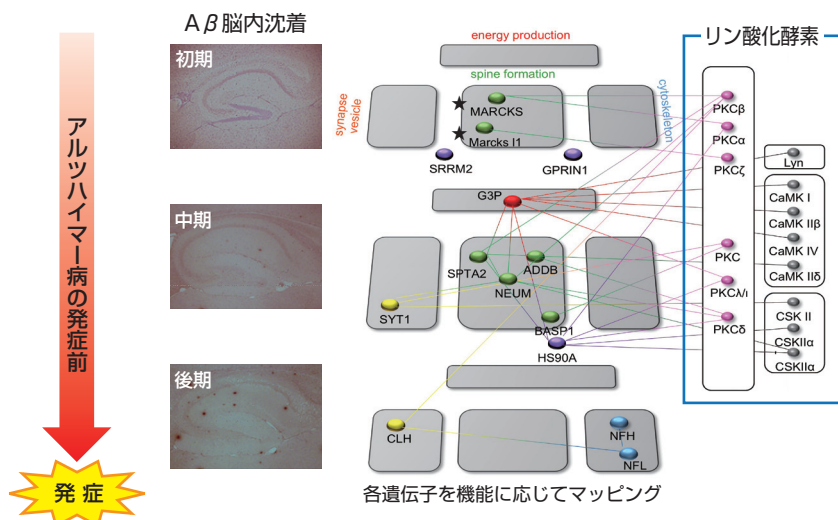
分子ネットワークを抽出しました。

その結果、アルツハイマー病遺伝子異常を持つモデルマウスでは、どのような遺伝子異常の場合でも、特定の17個のタンパク質が形成する分子ネットワーク(病態コアネットワーク)にリン酸化を介したシグナル変化が生じていることが分かりました。そして病態コアネットワークの時間的変化を調べたところ、MARCKS, Marcks11というタンパク質(図の★印)のリン酸化は、Aβ脳内沈着が起きる時期よりも早い時点で変化し始めることが分かりました。驚くべきことに、エネルギー産生に関わる解糖系の酵素もアルツハイマー病態コアネットワークに含まれていることも同時に明らかになり、食生活と認知症の関連性がある可能性も出てきました。

私たちは、アルツハイマー病とは異なるタイプの認知症である前頭側頭葉変性症(アルツハイマー病の約半数の患者さんが該当すると考えられている)の原因遺伝子4種類についても新しいモデルマウスを作成して、同様の実験手法で病態コアネットワークを抽出しました。さらに、アルツハイマー病の病態コアネットワークと前頭側頭葉変性症の病態コアネットワークを比べることで、統一的な病態コアネットワークを抽出することもできました。

これらの成果は、正常な脳老化と異常な脳老化を分岐する仕組みと考えられ、認知症の予防、治療に応用できると考えられます。

アルツハイマー病の病態コアネットワークの時間的変化



研究成果のご紹介

- K. Tagawa et al. "Comprehensive phosphoproteome analysis unravels the core signaling network that initiates the earliest synapse pathology in preclinical Alzheimer's disease brain" *Human Molecular Genetics*, 24; 540-558, 2015.
- H. Ito et al. "In utero gene therapy rescues microcephaly caused by Pqbp1-hypofunction in neural stem progenitor cells" *Molecular Psychiatry*, 20:459-471, 2015.
- M. Mizuguchi et al. "Mutations in the PQBP1 gene prevent its interaction with the spliceosomal protein U5-15kD" *Nature Communications*, 5; 3822, 2014.
- Y. Ikeuchi et al. "The XLID protein PQBP1 and the GTPase dynamin 2 define a signaling link that orchestrates ciliary morphogenesis in postmitotic neurons" *Cell Reports*, 4; 879-889, 2013.
- K. Fujita et al. "A functional deficiency of TERA/VCP/p97 contributes to impaired DNA repair in multiple polyglutamine diseases." *Nature Communications*, 4; 1816, 2013.

目的

- 環境因子としての酸化ストレスと「栄養素（食）」が脳老化を促進する分子基盤の解明、及びその制御法の探索
- ヒト小脳を中心とする運動学習・記憶機能を定量的に評価する機器の開発

成果

- ビタミンE欠乏が起こす酸化ストレスは、PLA2G3遺伝子の過剰発現を介して老化を促進することを発見した。
- ヒトの脳の老化や小脳疾患の診断に応用できる定量的評価機器の開発に成功した。

人間の脳が老化を起こす要因の一つに、酸化ストレスがあります。酸化ストレスとは、酸素が酸化反応によって引き起こす、体に有害な作用のことを指します。体の中でも脳は酸化ストレスに最も弱い臓器であると言われていますが、酸化ストレスはどのようにして脳の老化を促進するのでしょうか。そこで私たちは、その一つのメカニズムを解明しました。

私たちが作製したビタミンE欠乏マウス(α TTP遺伝子欠損マウス)では、脳で酸化ストレスが生じやすく、かつアミロイド β タンパク質($A\beta$)が脳内に沈着しやすい状態になります。このタンパク質は脳の老化が進んだ場合に沈着するだけでなく、アルツハイマー病患者さんの脳では大量に沈着します。ところが、 α TTP遺伝子欠損マウスの脳でも、小脳では $A\beta$ の沈着はほとんど起こりません。また、ビタミンEを食事で補うと、 $A\beta$ の沈着が抑制されます。

私たちはこのことに着目し、 α TTP遺伝子欠損マウスの脳内でどのような遺伝子が増えているか調べました。その中から、酸化ストレスや老化によって、脳内で発現が増加し、かつ、 $A\beta$ が沈着しにくい小脳では増加しない遺伝子を探索したところ、PLA2G3遺伝子が発見しました。マウスだけでなく高齢の霊長類でもこの遺伝子は発現が上昇しており、さらにアルツハイマー病患者さんの脳では、 $A\beta$ が沈着している周囲に存在する活性化した星状神経膠細胞というグリア細胞にPLA2G3タンパク質が増加していました。さらにこのPLA2G3遺伝子を培養細胞に発現させると、その

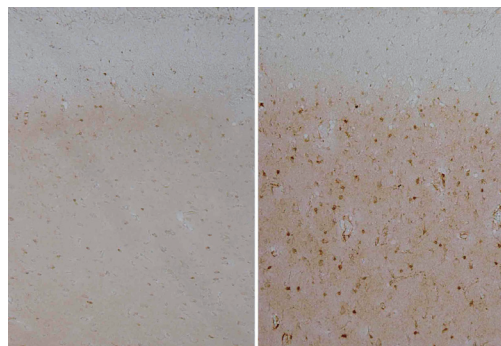
濃度に並行して $A\beta$ の分解を担うインスリン分解酵素(IDE)の発現が減少することを発見しました。つまり、酸化ストレスまたは老化やアルツハイマー病では、PLA2G3遺伝子が誘導されて、PLA2G3タンパク質が増加する一方、IDEの発現を抑制し、 $A\beta$ の沈着を促進している可能性が明らかになりました。

さて、ヒトの脳は様々な部分が特徴を持った働きをしており、それぞれの働きが統合されて初めて全体として正常に機能します。私たちは、正常な機能を維持するために果たす小脳の役割とその老化・病変に注目しました。

小脳は、体のバランス維持や、細かい動作を上手に行う運動の調節役であることがよく知られていますが、言語や感情の創出、「体で覚える」運動記憶にも深く関わっています。私たちは、この小脳の記憶能力を簡単かつ正確に定量的に測る機器の開発に成功しました。約20分の測定によりヒトの脳の老化度の程度や、小脳に異常があるかどうか推定できることが分かりました。病院での検査機器などに応用しようと研究を進めています。

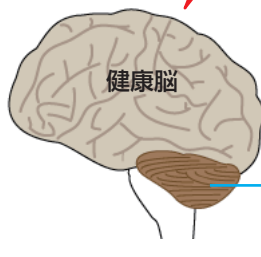


アルツハイマー病脳における PLA2G3 タンパク質の増加



健康な脳 アルツハイマー病の脳
(茶色の斑点が PLA2G3 タンパク質)

酸化ストレス
老化
アルツハイマー病



PLA2G3 発現上昇, IDE 発現低下
など脳内での遺伝子の働きの変化

$A\beta$ の沈着の促進

研究成果のご紹介

- Y. Hashimoto et al. "Quantitative evaluation of human cerebellum-dependent motor learning through prism adaptation of hand-reaching movement." PLoS ONE, 10; e0119376, 2015.
- Y. Niimi et al. "Abnormal RNA structures (RNA foci) containing a penta-nucleotide repeat (UGGA)n in the Purkinje cell nucleus is associated with spinocerebellar ataxia type 31 pathogenesis." Neuropathology, 33; 600-611, 2013.
- M. Takahashi et al. "Cytoplasmic location of α 1A voltage-gated calcium channel C-terminal fragment (Cav2.1-CTF) aggregate is sufficient to cause cell death." PLoS ONE, 8; e50121, 2013.
- K. Ishikawa et al. "Pentanucleotide repeats at the spinocerebellar ataxia type 31 (SCA31) locus in Caucasians." Neurology, 77; 1853-1855, 2011.

目 的

- 糖尿病の発症がアルツハイマー病の病態に及ぼす影響とその分子機構の解明
- 食餌制限によるアルツハイマー病の予防的効果の検証

成 果

- 糖尿病により脳のA β の消失が抑制されA β 蓄積が増加する一方、遺伝的にインスリンシグナルが抑制された状況では、A β 蓄積は減少することを明らかにした。
- 食餌制限によりA β 蓄積が抑制されることを示した。

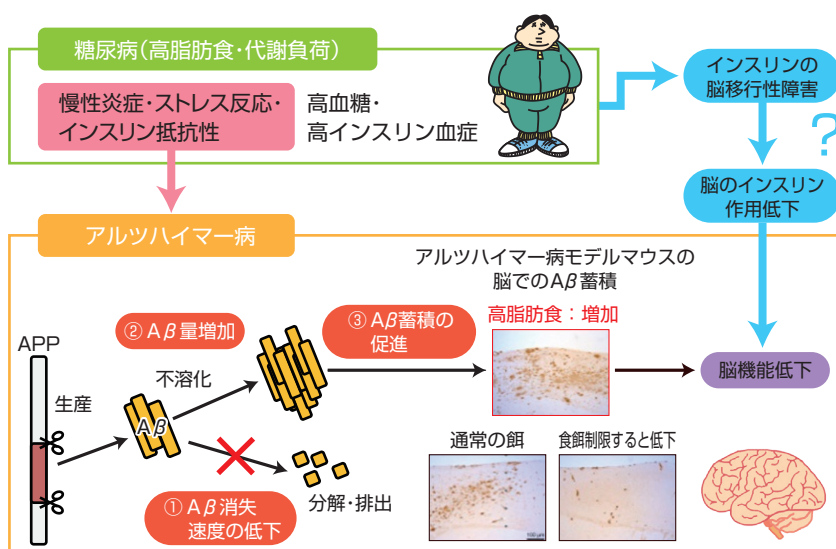
アルツハイマー病(AD)の特徴として、脳に老人斑(アミロイド斑)と呼ばれる異常な構造物が出現することが知られています。アミロイド斑は主にアミロイド β タンパク質(A β)と呼ばれるタンパク質が蓄積して形成されており、A β が蓄積する過程で神経細胞の機能低下や死滅をもたらし、ADが発症すると考えられています。

近年、複数の疫学研究から、2型糖尿病がADの発症を約2倍に高めることが明らかになりました。しかし、糖尿病がどのように脳に影響を及ぼし、ADを発症させるかについては不明でした。そこで私たちは、糖尿病とADをつなぐメカニズムの解明を目指すとともに、食餌制限によるADに対する予防的効果について検討しました。

初めに、脳にアミロイド斑が蓄積するADモデルマウスを用い、長期間高脂肪食を与えることで糖尿病を誘発しました。これら糖尿病合併ADマウスでは、通常の餌を与えたADマウスに比べ、脳のA β 量が増加し、加齢とともに明らかに多くのA β が蓄積することが分かりました。A β 量増加の原因として、A β の産生・分泌を検討した結果、食餌による変化は認められませんでした。一方、脳微小透析法により覚醒・活動状態のマウスの脳内におけるA β の代謝を測定すると、高脂肪食群ではA β の消失速度が低下していました。すなわち、糖尿病状態下の脳ではA β の代謝が抑制されることで、A β 量が増加し、その結果、A β の蓄積が促される可能性を示しました。

インスリンは食後に骨格筋や肝臓などの末梢臓器に作用し、血糖値を低下させるホルモンです。糖尿病では、インスリンの効きが悪くなる“インスリン抵抗性”が発症することで、高血糖となります。しかし、糖尿病発症時における脳のインスリンシグナルの変化については、未解明な点が多く残されていました。私たちは糖尿病合併ADマウスを用いて、脳におけるインスリンの作用について検討し、A β の増加が見られた月齢において、インスリンに対する応答性が脳でも低下していることを見いだしました。またこの原因として、血液中のインスリンが脳内部に移行しにくくなっている可能性を示すデータを得つつあります。一方で、インスリンシグナルの伝達に必須であるインスリン受容体基質(IRS-2)を遺伝的に欠損したマウスの脳では、A β の蓄積が顕著に低下することが分かりました。これらの結果は、糖尿病におけるインスリンシグナルの低下が直接的にA β 量を増加させるのではなく、インスリン抵抗性に伴って起こる炎症・ストレス反応などの変化がA β の代謝変化に重要な役割を果たしている可能性を示しています。

また、予防的観点から、高脂肪食の摂取により脳のA β 量が増加した状態でも、その後の食餌制限により、インスリン抵抗性が回復するとともに、A β 蓄積も抑制されることを明らかにしました。このことから、糖尿病の改善により、ADの進行の速度が抑えられる可能性が示唆されました。



研究成果のご紹介

- ・ K. Tagawa et al. "Comprehensive phosphoproteome analysis unravels the core signaling network that initiates the earliest synapse pathology in preclinical Alzheimer's disease brain." Human Molecular Genetics, 24; 540-558, 2015.
- ・ N. Takasugi et al. "FTY720/fingolimod, a sphingosine analogue, reduces amyloid- β production in neurons." PLoS ONE, 8; e64050, 2013.
- ・ Y. Ohki et al. "Phenylpiperidine-type γ -secretase modulators target the transmembrane domain 1 of presenilin 1." The EMBO Journal, 30; 4815-4824, 2011.
- ・ N. Takasugi et al. "BACE1 activity is modulated by cell-associated sphingosine-1-phosphate." The Journal of Neuroscience, 31; 6850-6857, 2011.

目的

- 脳の健康を脅かす様々な環境ストレスに対し、神経細胞がどのようなメカニズムで対応しているか解明
- 脳の健康維持や疾患克服への戦略の探索

成果

- 酸化ストレス・ミトコンドリアストレス・小胞体ストレスに対して神経細胞が応答する新たな分子メカニズムを解明した。
- 神経変性疾患の治療薬開発につながる新規創薬標的を発見した。

外界からの様々な環境ストレスは、脳の健康を脅かす環境因子として精神・神経疾患の主要なリスク因子となっています。ヒトの脳には、そのような環境ストレスに対応するための仕組みが備わっており、その破綻は神経変性疾患へとつながっていきますが、その詳しいメカニズムについてはまだよく分かっていません。そこで私たちは、環境ストレスの多くが酸化ストレス・ミトコンドリアストレス・小胞体ストレスといった刺激として細胞に負荷を与えることに着目し、それぞれのストレスに対して神経細胞がどのような仕組みで応答するのか、さらにはストレスがどのようにして神経変性を引き起こすのか、その詳細な分子メカニズムを明らかにし、脳の健康維持や疾患克服への戦略を探ることを目的としました。

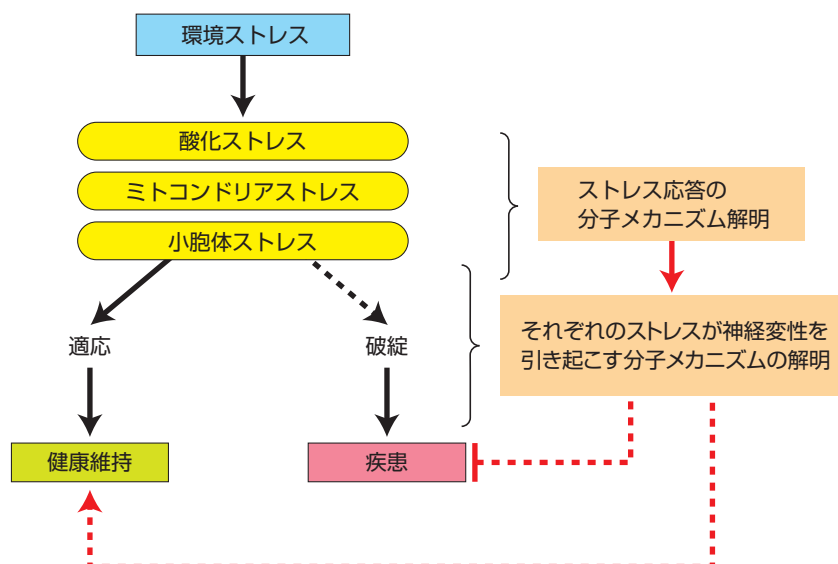
酸化ストレスについては、神経細胞死を引き起こす際の情報伝達に重要な分子であるASK1の活性化を制御する未知の分子の探索を行いました。その結果、酸化ストレスによって活性化されるASK1の働きを制御する新規分子Roquin-2の発見に成功しました。

ミトコンドリアストレスについては、PGAM5というミトコンドリア局在タンパク質の神経細胞における役割を解析しました。モデル動物としてショウジョウバエを用いた研究を行い、PGAM5がストレスから神経細胞を保護する機能を持つことを明らかにしました。

小胞体ストレスについては、神経変性疾患である筋萎縮

性側索硬化症(ALS)に着目して研究を進めました。ALSの一部は遺伝子異常によって引き起こされることが分かっており、中でもSOD1という酵素をコードする遺伝子の変異については日本でもたくさん報告されています。私たちは以前、SOD1の遺伝子変異が小胞体ストレスを引き起こし、神経細胞死を引き起こす分子メカニズムを突き止めていたため、そのメカニズムに基づいた世界初のALS治療薬開発を目指した研究を進めました。その結果、ALSモデルマウスの寿命を延長させる効果のある新規低分子化合物の開発に成功しました。また、ALSを引き起こす遺伝子変異を起こしたSOD1に特異的に反応する抗体の開発にも成功し、いまだ存在しないALS発症診断法への応用を進めました。

本研究により、様々なストレスに対する神経細胞応答の仕組みについて、新規の知見を得ることができました。このような詳細な分子メカニズムの解明は、より副作用の少ない薬の開発へとつなげることができます。今後は、私たちが明らかにした分子メカニズムに基づき、脳疾患克服への革新的な治療戦略開発へとつなげていきます。



研究成果のご紹介

- K. Mosallanejad et al. "The DEAH-Box RNA helicase DHX15 activates NF- κ B and MAPK signaling downstream of MAVS during antiviral responses." *Science Signaling*, 7; ra40, 2014.
- T. Maruyama et al. "Roquin-2 promotes ubiquitin-mediated degradation of ASK1 to regulate stress responses." *Science Signaling*, 7; ra8, 2014.
- K. Homma et al. "SOD1 as a molecular switch for initiating the homeostatic ER stress response under zinc deficiency." *Molecular Cell*, 52; 75-86, 2013.
- Y. Sekine et al. "The Kelch repeat protein KLHDC10 regulates oxidative stress-induced ASK1 activation by suppressing PP5." *Molecular Cell*, 48; 692-704, 2012.
- T. Fujisawa et al. "A novel monoclonal antibody reveals a conformational alteration shared by amyotrophic lateral sclerosis-linked SOD1 mutants." *Annals of Neurology*, 72; 739-749, 2012.

脳科学研究戦略推進プログラム 課題E 成果報告書

■ 発行元 **文部科学省研究振興局ライフサイエンス課 脳科学係**

〒100-8959 東京都千代田区霞が関三丁目2番2号

tel: 03-5253-4111 (代表) / fax: 03-6734-4109

<http://www.lifescience.mext.go.jp/> (ライフサイエンスの広場)

脳科学研究戦略推進プログラム事務局

〒444-8585 愛知県岡崎市明大寺町字西郷中38 生理学研究所内

tel: 0564-55-7803, 7804 / fax: 0564-55-7805

<http://brainprogram.mext.go.jp/>

平成27年3月発行(6月公開)

本書を無許可で複写・複製することを禁じます

©2015 MEXT SRPBS Printed in Japan



Strategic Research Program for Brain Sciences

Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology - Japan